

Rec'd PCT/PTO 09 JUN 2005

特 許 協 力 条 約

PCT

REC'D 03 FEB 2005

WIPO PCT

特許性に関する国際予備報告 (特許協力条約第二章)

(法第12条、法施行規則第56条)
(PCT36条及びPCT規則70)

出願人又は代理人 の書類記号 P 0 3 - 1 3 3	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 3 / 1 5 8 2 8	国際出願日 (日.月.年) 1 1 . 1 2 . 2 0 0 3	優先日 (日.月.年) 1 2 . 1 2 . 2 0 0 2
国際特許分類 (IPC) Int. Cl' C07K19/00, C12N15/62, C12Q1/37		
出願人 (氏名又は名称) 独立行政法人産業技術総合研究所		

1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。
法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 5 ページからなる。
3. この報告には次の附属物件も添付されている。
- a ☒ 附属書類は全部で 3 ページである。
- ☒ 補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面の用紙 (PCT規則70.16及び実施細則第607号参照)
- ☐ 第I欄4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙
- b ☒ 電子媒体は全部で ディスク1枚 (電子媒体の種類、数を示す)。
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するテーブルを含む。(実施細則第802号参照)
4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- ☒ 第I欄 国際予備審査報告の基礎
- ☐ 第II欄 優先権
- ☐ 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- ☐ 第IV欄 発明の単一性の欠如
- ☒ 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- ☒ 第VI欄 ある種の引用文献
- ☐ 第VII欄 国際出願の不備
- ☐ 第VIII欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 1 1 . 0 5 . 2 0 0 4	国際予備審査報告を作成した日 1 4 . 0 1 . 2 0 0 5		
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 深草 亜子	4 B	9 5 4 8
電話番号 03-3581-1101 内線 3448			

第 I 欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

☐ この報告は、_____ 語による翻訳文を基礎とした。

それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。

- ☐ PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査
☐ PCT規則12.4にいう国際公開
☐ PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書

第 1-16 ページ、出願時に提出されたもの

第 _____ ページ*、付けて国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ*、付けて国際予備審査機関が受理したもの

☒ 請求の範囲

第 4-6, 8, 11, 12, 14, 15, 17 項、出願時に提出されたもの

第 _____ 項*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの

第 1, 9, 13, 16, 18-21 項*、13.10.2004 付けて国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ 項*、付けて国際予備審査機関が受理したもの

☒ 図面

第 1-5 ページ/図、出願時に提出されたもの

第 _____ ページ/図*、付けて国際予備審査機関が受理したもの

第 _____ ページ/図*、付けて国際予備審査機関が受理したもの

☒ 配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. ☒ 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ

☒ 請求の範囲 第 2, 3, 7, 10 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること)

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること)

4. ☐ この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

☐ 明細書 第 _____ ページ

☐ 請求の範囲 第 _____ 項

☐ 図面 第 _____ ページ/図

☐ 配列表 (具体的に記載すること)

☐ 配列表に関連するテーブル (具体的に記載すること)

* 4. に該当する場合、その用紙に "superseded" と記入されることがある。

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1、4-6、8、9、11-21	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲	1、4-6、8、9、11-21	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1、4-6、8、9、11-21	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1：上原記念生命科学財団研究報告書集，2002 Nov.，Vol.16，p.257-259

請求の範囲1、4-6、8、9、11-21に係る発明は、国際調査報告で引用された文献に対して新規性及び進歩性を有する。

文献1には、ウミシイタケルシフェラーゼ-ノシセプチン-グリーン蛍光蛋白質からなる融合蛋白質をCOS細胞において発現させること、及び該融合蛋白質に対するプロセッシングの有無により発光が異なることが記載されている

(図1等)。しかし、ルシフェラーゼを分泌型ルシフェラーゼ又はN末端側に分泌蛋白質が導入された非分泌型ルシフェラーゼとすることにより、融合蛋白質を分泌型とすることは記載されていない。一方、本願発明は、それにより「培養液の発光スペクトルを測定することが可能になり、細胞を破壊することなくプロセッシングをモニタリングすることができる」という有利な効果を発揮する。

第VI欄 ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO 2004/022600 A1 「E, X」	18. 03. 2004	04. 09. 2003	06. 09. 2002

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	--

配列表に関する補充欄

第 I 欄 2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。

- a. タイプ ☐ 配列表
☒ 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット ☐ 書面
☒ コンピュータ読み取り可能な形式
- c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる
☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された
☐ 出願後に、調査又は予備審査のために、この国際機関に提出された
☐ _____ 付で、この国際予備審査機関が補正*として受理した

2. ☒ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

*第 I 欄 4. に該当する場合、差替える配列表又は配列表に関連するテーブルに "superseded" と記入されることがある。

請求の範囲

1. (補正後) プロセッシングを受けるアミノ酸残基又はアミノ酸残基配列を含む1以上のプロセッシング切断領域と、プロセッシングを受けることによりエネルギー移動特性変化を示す1以上の特性可変領域とを含み、該特性可変領域が発光蛋白質と蛍光蛋白質を含み、該発光蛋白質が分泌型ルシフェラーゼ又はN末端側に分分泌蛋白質が導入された非分泌型ルシフェラーゼである、蛋白質のプロセッシングを測定可能な分泌型モニター蛋白質。
2. (削除)
3. (削除)
- 10 4. プロセッシング切断領域を切断するプロセッシング酵素が、PC1、PC2、フリン、プロテアソーム、カテプシンおよびトロンビンからなる群から選ばれるいずれかである請求項1に記載のモニター蛋白質。
5. プロセッシング酵素がPC1である請求項4に記載のモニター蛋白質。
6. プロセッシング切断領域が、特性可変領域を構成する発光蛋白質と蛍光蛋白質の間に位置する、請求項1に記載のモニター蛋白質。
- 15 7. (削除)
8. 蛍光蛋白質が、グリーン蛍光蛋白質(GFP)、黄色蛍光蛋白質(YFP)、青色蛍光蛋白質(BFP)、シアン蛍光蛋白質(CFP)、DsREDおよび赤色蛍光蛋白質(RFP)からなる群から選ばれるいずれかに由来の蛋白質である、請求項1に記載のモニター蛋白質。
- 20 9. (補正後) 特性可変領域の発光蛋白質が、分泌型ウミボタル(*Cypridina noctiluca*) 発光酵素であり、特性可変領域の蛍光蛋白質が、発光オワンクラゲ(*Aequorea victoria*) 由来変異体の黄色蛍光タンパクとからなることを特徴とする、請求項1に記載のモニター蛋白質。
- 25 10. (削除)

11. 以下の a) および b) のいずれかのアミノ酸配列を有する請求項 1 に記載のモニタータンパク質:

a) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列によって表わされるモニタータンパク質;

5 b) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列において、1 または複数のアミノ酸が置換、付加、欠失または挿入され、発光蛋白質と蛍光蛋白質の間のエネルギー移動特性と、プロセッシング切断領域におけるプロセッシング酵素による切断活性が保持されているモニター蛋白質。

12. プロセッシング切断領域が S E Q K Q L Q K R F G G F T G G である、請求項 1 に記載のモニター蛋白質。

10 13. (補正後) 請求項 1, 4~6, 8~9, 11~12 のいずれかに記載のモニター蛋白質をコードする DNA。

14. 以下 c) - d) のいずれかの DNA 配列を有する請求項 13 に記載の DNA。

c) 配列番号 1 に記載に塩基配列により表わされる DNA;

15 d) 配列番号 1 に記載の塩基配列により表わされる DNA 又はそれと相補的な DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする DNA であって、該 DNA がコードするタンパク質が発光蛋白質と蛍光蛋白質の間のエネルギー移動特性と、プロセッシング切断領域におけるプロセッシング酵素による切断活性が保持されている DNA。

15. 請求項 13 に記載の DNA を含む発現ベクター。

20 16. (補正後) 請求項 1, 4~6, 8~9, 11~12 のいずれかに記載のモニター蛋白質、請求項 13~14 に記載の DNA、および請求項 15 に記載の発現ベクターのいずれかをある特定の細胞に導入し、モニター蛋白質のエネルギー移動特性変化を定量的に評価することを特徴とする、該細胞のプロセッシング能を測定する方法。

25 17. 前記細胞がヒト由来の細胞である請求項 16 に記載の方法。

18. (補正後) 被験蛋白質と請求項 1, 4~6, 8~9, 11~12 のいずれかに記載のモニター蛋白質と反応させ、該モニター蛋白質のエネルギー移動特性変化を測定する工程を含む、被験蛋白質のプロセッシング能を測定する方法。

19. (補正後) プロセッシング酵素をスクリーニングする方法であって、被験蛋白質と請求項1, 4~6, 8~9, 11~12のいずれかに記載のモニター蛋白質とを反応させる工程; 被験蛋白質との反応の前後における該モニター蛋白質のエネルギー移動特性変化を測定して該モニター蛋白質の特性を変化させる被験蛋白質を選択する工程、を含む方法。
20. (補正後) プロセッシングを促進或いは抑制する化合物をスクリーニングする方法であって、被験試料とプロセッシング酵素並びに請求項1, 4~6, 8~9, 11~12のいずれかに記載のモニター蛋白質とを接触させる工程; 被験試料の接触の前後での該モニター蛋白質のエネルギー移動特性変化を測定して、
- 10 該特性を促進または抑制する試料を選択する工程、を含む方法。
21. (補正後) プロセッシング(酵素活性)を促進或いは抑制する化合物をスクリーニングする方法であって、請求項1, 4~6, 8~9, 11~12のいずれかに記載のモニター蛋白質、請求項13~14に記載のDNA配列、および請求項15に記載の発現ベクターのいずれかが導入された細胞を調製する工程; 被験
- 15 試料の存在下及び非存在下で、該細胞で発現されたモニター蛋白質のエネルギー移動特性変化を測定して、該特性変化を促進または抑制する試料を選択する工程、を含む方法。